

KONINKRIJK DER



NEDERLANDEN

EXPRESS MAIL MAILING LABEL
NO. EL 988 706 104 05

Bureau voor de Industriële Eigendom



Hierbij wordt verklaard, dat in Nederland op 28 augustus 2000 onder nummer 1016034,
ten name van:

**NEDERLANDSE ORGANISATIE VOOR TOEGEPAST-
NATUURWETENSCHAPPELIJK ORGANISATIE TNO**

te DelftA

een aanvraag om octrooi werd ingediend voor:

"Werkwijze en systeem voor het identificeren en kwantificeren van chemische componenten van
een te onderzoeken mengsel van materialen",

onder inroeping van een recht van voorrang, gebaseerd op de in Nederland op

3 augustus 2000 onder nummer 1015875 ingediende aanvraag om octrooi, en

dat de hieraan gehechte stukken overeenstemmen met de oorspronkelijk ingediende stukken.

Rijswijk, 24 december 2003.

De Directeur van het Bureau voor de Industriële Eigendom,
voor deze,

Mw. M.M. Enhus

Werkwijze en inrichting voor het identificeren en kwantificeren van chemische componenten van een te onderzoeken mengsel van materialen, waarbij het mengsel wordt onderworpen aan een scheidingsmethode (o.a. gas/vloeistof-chromatografie, electroferese, capillaire electrochromatografie, iso-electric-focusing, super kritische vloeistof chromatografie etc.) om de componenten van het mengsel te scheiden in gescheiden materialen. De gescheiden materialen worden onderworpen aan spectrometrie om de componenten te detecteren en te identificeren. Daarbij worden een totale ionenstroomchromatogram en spectra verkregen en uit de spectra worden massa's geselecteerd. Voor elke massa worden dan massachromatogrammen verkregen. De basislijn van de massachromatogrammen wordt gecorrigeerd, waarna de entropie van elk massachromatogram wordt berekend en opgeslagen.

De dataset kan verder worden gepresenteerd door een centraal entropie-gewogen massaspectrum.

Werkwijze en systeem voor het identificeren en kwantificeren van chemische componenten van een te onderzoeken mengsel van materialen

De uitvinding heeft betrekking op een werkwijze voor het identificeren en
5 kwantificeren van chemische componenten van een te onderzoeken mengsel van
materialen, omvattende het onderwerpen van het mengsel aan een scheidingsmethode
(o.a. gas/vloeistof-chromatografie, elektroforese, capillaire electrochromatografie, iso-
electric-focusing, super kritische vloeistof chromatografie etc.) om de componenten
van het mengsel te scheiden in gescheiden materialen en het onderwerpen van de
10 gescheiden materialen aan spectrometrie om de componenten te detecteren en te
identificeren, waarbij een totaal ionenstroomchromatogram (of ionenelectropherogram)
en spectra worden verkregen en waarbij uit de spectra massa's worden geselecteerd en
voor elke massa massachromatogrammen worden verkregen. Tevens omvat de
werkwijze de mogelijkheid om de geselecteerde componenten als vingerafdruk te
15 bundelen en deze in combinatie met chemometrische en biometrische technieken als
karakteriseringsmethode te gebruiken voor complexe mengsels van allerlei oorsprong,

Een dergelijke werkwijze is partieel bekend uit het Amerikaanse octrooischrift
5.672.869.

Met moderne instrumentatie is de tijd voor het verkrijgen van de bovengenoemde
20 dataset, zoals chromatogrammen en massaspectra niet de kritische factor meer, maar de
tijd die nodig is voor het analyseren van de data zelf. In het bijzonder bevat een dataset
duizenden spectra gemeten over een m/z (massa/lading) bereik van twee tot drie
decaden. Een uitgebreid onderzoek aan een dataset kan verscheidene uren tot zelfs
dagen in beslag nemen, indien een volledige analyse vereist is. In het bijzonder in een
25 researchomgeving moet deze analyse worden uitgevoerd door hoog gekwalificeerde en
daarom dure werknemers.

In het Amerikaanse octrooischrift 5.672.869 is een dataverwerking beschreven,
die gebaseerd is op het zoveel mogelijk scheiden van storingspieken en ruis uit de
chromatogrammen om de relevante data te verkrijgen. Hierbij wordt een
30 soortgelijkheidsindex tussen elk massachromatogram en een daarbij behorend
gladgestreken (ook wel smoothed genoemd) massachromatogram berekend en gebruikt
voor de betreffende scheiding.

014

De uitvinding heeft ten doel te voorzien in een werkwijze van de in de aanhef genoemde soort, waarbij de scheiding tussen storingspieken en ruis enerzijds en relevante data anderzijds nauwkeuriger en duidelijker plaatsvindt, waardoor de data-analysetijd wordt verkort en de operator zijn of haar deskundigheid efficiënter kan gebruiken. Met andere woorden kan meer aandacht worden geschonken aan interpretatie van de data in plaats van het uitvoeren van herhaalde routinematige taken. Tevens biedt de werkwijze de mogelijkheid om unieke vingerafdrukken van complexe mengsels te genereren, welke in toenemende mate worden gegenereerd in allerlei gebieden (chemie, farmacie, medisch, biologie, biotechnologie etc.), maar in het bijzonder in de levenswetenschappen o.a. voortvloeiend uit de analyse van biologische materialen gericht op DNA fragmenten, eiwitten en metabole componenten.

Dit doel wordt volgens de uitvinding daardoor bereikt, dat de basislijn van de massachromatogrammen wordt gecorrigeerd en dat de entropie van elk massachromatogram wordt berekend en opgeslagen en indien gewenst gevolgd door verwerking van deze entropiewaarden c.q. op deze entropiewaarden geselecteerde componenten door middel van chemometrische en biometrische methoden, waarvan voorkeursvormen zijn multivariate analyse technieken (PCA, DA, PLS, PLDA, neural netwerken), patroonherkenningstechnieken en Fourier Transform technieken.

Verdere uitvoeringsvormen van de werkwijze volgens de uitvinding zijn in volgconclusies omschreven.

Voorts heeft de uitvinding betrekking op een systeem voor het identificeren en kwantificeren van chemische componenten van een te onderzoeken mengsel van materialen, welk systeem als meest gebruikelijke uitvoering een chromatograaf omvat, maar daartoe niet beperkt is, voor het scheiden van de componenten van het mengsel in gescheiden materialen en een spectrometer waaraan de gescheiden materialen worden toegevoerd om de componenten te detecteren en te identificeren, waarbij een totaal ionenstroomchromatogram en spectra worden verkregen en waarbij uit de spectra massa's worden geselecteerd en voor elke massa een chromatogram wordt verkregen. Dit systeem heeft volgens de uitvinding het kenmerk, dat een basislijncorrectie-inrichting aanwezig is voor het corrigeren van de basislijn van de massachromatogrammen en dat een entropie-rekeninrichting aanwezig is voor het berekenen van de entropie van de massachromatogrammen en voorts een opslaginrichting aanwezig is voor het opslaan van de entropiewaarden.

Uitvoeringsvormen van het systeem volgens de uitvinding zijn in volgcconclusies omschreven.

De uitvinding zal hierna nader worden toegelicht aan de hand van de figuren.

5 Figuur 1 toont een voorbeeld van een totale ionenstroomchromatogram zoals verkregen door middel van een vloeistofchromatograaf in combinatie met een massaspectrometer.

Figuur 2 toont een grafiek van voorbeelden van berekende entropieën van chromatogrammen.

10 Figuur 3 toont een volgens de uitvinding gecorrigeerd totaal ionenstroomchromatogram.

Figuur 4a, 4b toont een stroomschema van een bij voorkeur toe te passen uitvoeringsvorm van de uitvinding.

15 Figuur 5 geeft aan de bij voorkeur toe te passen uitvoeringsvorm bij verwerking van de geselecteerde of entropie-gewogen componenten met biometrische/chemometrische technieken.

20 Bij het detecteren, identificeren en kwantificeren van componenten in een materiaal wordt dikwijls de combinatie van chromatografie of electromigratiemethoden en spectrometrie toegepast. In figuur 1 is een voorbeeld van een totale ionenstroomchromatogram getoond, dat verkregen is door middel van de combinatie van vloeistofchromatografie en massaspectrometrie.

25 Vloeistofchromatografie is een type van chromatografie en is een methode voor het scheiden van mengsels. In de eenvoudigste vorm van een chromatografieproces wordt een verticale buis toegepast, die gevuld is met fijn verdeelde vaste deeltjes en wordt zoals bekend de stationaire fase genoemd. Het te scheiden mengsel van materialen wordt aan de bovenzijde van de buis geplaatst en langzaam naar beneden gewassen met een geschikte vloeistof, namelijk de mobiele fase.

30 Het mengsel lost eerst op en elk molecuul wordt in de stromende vloeistof getransporteerd en wordt daarna gebonden met of geadsorbeerd aan de stationaire fase. Elk type molecuul zal een verschillende tijdsperiode in de vloeistoffase verblijven afhankelijk van de mate van adsorptie, zodat elke verbinding door de buis zal dalen met een afwijkende snelheid, zodat elke verbinding wordt gescheiden van elke andere verbinding.

De moleculen van het te scheiden mengsel wisselen vele malen uit tussen de mobiele en de stationaire fase. De snelheid waarmee dit plaatsvindt hangt af van de mobiliteit van de afzonderlijke moleculen, de temperatuur en de bindingskrachten. Het verschil in de tijdsperiode waarin elk type molecuul in de mobiele fase verblijft, leidt tot een verschil in transportsnelheid en tot de scheiding van substanties.

Chromatografie wordt primair toegepast als een scheidingstechniek. Ondanks de verschillen in de analysetijden voor verschillende hierboven genoemde species is er in het algemeen onvoldoende specificiteit om de componenten te kunnen identificeren. Daarom wordt in het algemeen de chromatografietechniek gebruikt in serie met een identificatietechniek. De meest geschikte en dikwijls toegepaste techniek is massaspectrometrie.

Bij de hierboven genoemde techniek, hierna LCMS-techniek genoemd, is de chromatografie-inrichting direct gekoppeld met een massaspectrometer die constant scant (bijvoorbeeld elke 1-5 seconden) terwijl de gescheiden componenten uit de chromatograaf spoelen. Op deze wijze wordt een groot aantal massaspectra voor elke analyse geregistreerd. Er zullen spectra worden verkregen, die slechts "achtergrond" bevatten, omdat op dat moment geen componenten uit de chromatograaf spoelen. Wanneer een component uit de chromatograaf komt zullen de massaspectra veranderen afhankelijk van de aard van de component die de massaspectrometer binnentreden. Elk massaspectrum zal een bepaald aantal ionen bevatten, die tezamen een totale ionenstroom tot stand brengen, waarvan de intensiteit in figuur 1 is uitgezet als functie van de tijd. Dit totale ionenstroomchromatogram is in het algemeen het initiële product van de LCMS-techniek en vormt de basis voor de componentdetectie. Een alternatieve grafiek is die van een individuele massa als functie van de tijd, deze grafiek wordt een massachromatogram genoemd.

Bij de hierboven beschreven methode wordt vloeistofchromatografie en massaspectrometrie, inclusief allerlei verschillende vormen van instrumenten (Ion Trap, Time-of-flight, FTMS, quadrupole, sector instrumentatie of multiple combinaties van MS-hardware uitvoeringen zoals MS/MS (o.a. QQQ, QTOF, ion trap-sector, quadrupole sector) en geavanceerde experimenten (MS/MS, hoge resolutie massachromatografie etc. toegepast, echter er zijn uiteraard ook andere combinaties mogelijk, zoals bijvoorbeeld LC/NMR, LC/UV, of combinaties zoals LC/MS/MS, GC/MS, CE/MS, CEC/MS, ITP/MS, IEF/MS, SFC/MS.

Uit het voorgaande blijkt dat de LCMS-techniek een zeer uitgebreide dataset oplevert. Bij het analyseren van deze uitgebreide dataset worden dikwijls de volgende problemen ondervonden.

5 Vooral in een researchomgeving zijn de van belang zijnde massa's niet vooraf bekend. Voorts is vaak het belang van minderheidscomponenten hoog. Een zeer groot aantal massachromatogrammen moeten worden bekeken en bestudeerd, terwijl de identificatie van de pieken van de chromatogrammen moeilijk is als gevolg van de complexiteit van de dataset en meestal ook van de lage signaal-ruisverhouding daarvan.

10 De uitvinding komt tegemoet aan deze problemen en minimaliseert de analysetijd van de data in de dataset.

De uitvinding is gebaseerd op drie aspecten namelijk het maken van een onderscheid tussen pieken en ruis of storingspieken en het herkennen van massa's die van eenzelfde component afkomstig zijn.

15 Volgens het eerste aspect worden massachromatogrammen geselecteerd, die chemische informatie bevatten en worden massachromatogrammen verwijderd die slechts achtergrondruis of storingspieken bevatten. Hierdoor wordt de signaal-ruisverhouding in de overblijvende dataset aanzienlijk verhoogd omdat de ruis en storings selectief worden verwijderd (verhoging van de sensitiviteit).

20 Volgens het tweede aspect worden de massa's die overeenkomstige chromatogrammen vertonen snel gedetecteerd en gebruikt voor de identificatie van een chemische component.

25 Volgens het derde aspect worden de gedetecteerde massa's volgens het eerste en tweede aspect gecombineerd in een vingerafdruk van het onderzochte mengsel of worden de entropie gewogen profielen als vingerafdruk gebruikt, ten einde complexe mengsels te kunnen vergelijken met chemometrische/biometrische technieken.

30 Alle cruciale beslissingsstappen worden dus overgelaten aan de expert. Massachromatogrammen worden gesorteerd volgens waarschijnlijkheid dat deze relevante pieken bevatten of door hun waarschijnlijkheid te behoren bij een bepaalde component. Door toepassing van de uitvinding kan de expertise van personen op een efficiëntere wijze worden gebruikt.

Volgens het eerste aspect van de uitvinding wordt de basislijn van de massachromatogrammen gecorrigeerd, waarna de entropieën van deze massachromatogrammen worden berekend en opgeslagen. Hiermede wordt een goede

en nauwkeurige maatstaf verkregen, op basis waarvan de massachromatogrammen kunnen worden geanalyseerd. Hiertoe worden de massachromatogrammen met de berekende entropiewaarden op een beeldscherm weergegeven en kunnen aldus worden beoordeeld.

- 5 De basislijncorrectie volgens de uitvinding is gebaseerd op de aanname dat de basislijn door alle pieken van het chromatogram loopt waar geen pieken voorkomen. Daarom wordt eerst aan de hand van de eerste en tweede afgeleide van het chromatogram bepaald waar pieken voorkomen. Vervolgens worden door de overgebleven pieken een functie geplot met behulp van het Savitsky-Golay Algoritme.
- 10 Deze functie wordt gebruikt om elk punt van het originele chromatogram te corrigeren voor de voorspelde hoogte van de basislijn op dat punt.

Na deze correctie wordt van het resterende spectrum de entropie berekend volgens de formule

15
$$H = \sum_{i=1}^I p_i \ln(p_i)$$

- De hierboven weergegeven formule, het Savitsky-Golay algoritme en “smoothing” zijn beschreven in Numerical Recipes in C, second edition, The Art of Scientific computing, W.H. Press, B.P. Flannery, S.A. Teukolsky, W.T. Vetterling,
- 20 Cambridge University Press, 1988 ISBN 0-521-35465-X, pagina's 650-655.

Bij een uitvoeringsvorm van de werkwijze volgens de uitvinding worden voorafgaand aan de entropieberekening de massachromatogrammen gladgestreken (ook wel smoothing genoemd).

- In figuur 2 zijn als voorbeeld de entropiewaarden als functie van de m/z waarde
- 25 getoond. Voorts is als horizontale lijn een gekozen entropiedrempelwaarde ingetekend. In deze figuur 2 is de selectiemogelijkheid op basis van entropiewaarde gevisualiseerd.

- Volgens de uitvinding kunnen massachromatogrammen worden geselecteerd, waarvan de berekende entropiewaarde hoger is dan een vooraf gekozen entropiedrempelwaarde. Uit de aldus geselecteerde massachromatogrammen kan weer
- 30 een gereconstrueerd totaal ionenstroomchromatogram worden gevormd. In figuur 3 is een voorbeeld van een dergelijk gereconstrueerd totaal ionenchromatogram weergegeven. Hier is weer de intensiteit van de totale ionenstroom als functie van de tijd uitgezet. Het initiële in figuur 1 getoonde totale ionenstroomchromatogram en het

in figuur 3 getoonde gereconstrueerde chromatogram gelden voor hetzelfde mengsel. Bij vergelijking van deze beide chromatogrammen blijkt duidelijk de aanzienlijke ruisreductie. De pieken toornen duidelijk boven de ruis uit.

Het gereconstrueerde totale ionenstroomchromatogram is een zeer goed
5 hulpmiddel voor de operator bij de analyse van het te onderzoeken mengsel.

Volgens het tweede aspect van de uitvinding moeten de volgende stappen worden uitgevoerd, te weten het identificeren van massa's van een component; het groeperen en opslaan daarvan onder één (component-) naam en het verwijderen van de hele groep uit het gereconstrueerde totale ionenstroomchromatogram en het vervolgens identificeren
10 van de resterende pieken.

De werkwijzestappen volgens de uitvinding zullen hierna aan de hand van het stroomschema van figuur 4a, 4b worden toegelicht.

Allereerst wordt volgens het bovenste blok de data opgehaald uit de LCMS-inrichting of andere inrichting met soortgelijke functie. Een chromatogram wordt in
15 blok A geselecteerd. Het geselecteerde chromatogram wordt in blok B gladgestreken (smoothing) waarna in blok C een basislijncorrectie wordt uitgevoerd. De volgorde van gladstrijken en basislijncorrectie kan ook worden omgekeerd. Na het uitvoeren van de gladstrijkstap en de basislijncorrectiestap wordt in blok D de entropie van het chromatogram berekend. Volgens de lus via $(N = N + 1)$ wordt op elk
20 massachromatogram de werkwijzestappen A, B, C en D uitgevoerd. Opgemerkt wordt dat de stappen B en D van essentieel belang voor de uitvinding zijn, terwijl stap C een bij voorkeur toe te passen stap is.

Vervolgens kunnen de massachromatogrammen worden geordend naar entropiewaarde en als zodanig worden weergegeven. De entropiewaarden worden in
25 stap F weergegeven, bijvoorbeeld gerelateerd aan de massachromatogrammen, zoals in figuur 2.

In stap G wordt een te kiezen entropiedrempelwaarde ingesteld. In blok H worden de massachromatogrammen geselecteerd, waarvan de entropiewaarde hoger ligt dan de ingestelde entropiedrempelwaarde. Dit wordt aangegeven door de luslijn a.
30 In blok I worden de geselecteerde chromatogrammen samengevoegd tot een gereconstrueerd totale ionenchromatogram en op een beeldscherm weergegeven. In het blok K wordt een lijst met relevante entropiewaarden gemaakt en weergegeven.

Zoals met de blokken M en N is aangegeven kunnen de chromatogrammen worden weergegeven evenals de geselecteerde massaspectra. Tussen deze twee weergavemogelijkheden kan worden geschakeld hetgeen een goed hulpmiddel is bij de analyse van de data door de operator.

5 De operator kan als volgt te werk gaan.

Uit een lijst of de weergegeven spectra kan een massa worden geselecteerd en wordt volgens de uitvinding de correlatie tussen het bij de geselecteerde massa behorende massachromatogram en alle andere massachromatogrammen berekend en alle andere massa's worden weergegeven volgens hun correlatiecoëfficiënt. De
10 massachromatogrammen kunnen op basis van de correlatiecoëfficiënten worden bekeken en eventueel worden toegevoegd aan een bepaalde groep. Aan deze groep kan dan een naam worden toegewezen.

Bij een uitvoeringsvorm van de uitvinding wordt weer een gereconstrueerde totale ionenstroomchromatogram gevormd, waarbij echter een geselecteerde groep
15 wordt uitgezonderd. Deze operatie kan worden voortgezet, totdat in het gereconstrueerde totale ionenstroomchromatogram geen piek meer overblijft.

De hierboven beschreven werkwijzestappen volgens de uitvinding kunnen door middel van hardware-inrichting en worden uitgevoerd die in de volgende inrichtingconclusies zijn omschreven, echter worden deze bij voorkeur in software
20 geïmplementeerd.

Door het optellen van de intensiteiten voor ieder massaspoor kan een centraal spectrum worden verkregen dat representatief is voor gehele dataset. Dit centrale spectrum kan bovendien worden gewogen met de entropiewaarden van ieder individueel massaspoor, hetgeen leidt tot een entropie gewogen centraal
25 massaspectrum.

De uitvoeringsvorm van de uitvinding waarbij gebruik gemaakt wordt van het genereren van een vingerafdruk van het mengsel heeft een tweetal opties, zoals weergegeven in Figuur 5. In Figuur 5 is een voorbeeld van deze werkwijze aangegeven, waarbij vanuit de gegenereerde dataset enerzijds het spectrum bevattende de
30 entropiewaarden als functie van de m/z waarde (IQ-spectrum) als input wordt gebruikt voor de multi-variate gegevensverwerking. Hierbij kan dan het totale IQ-spectrum als input fungeren, dan wel kan een entropiewaarde als selectie gebruikt worden voor een inputdrempel. Een andere route is om op basis van IQ-waarde selectie een zogenaamd

gereconstrueerd totaal ionenstroom chromatogram (RIC) te maken waarin alle m/z traces worden gebruikt die geselecteerd zijn. Op deze wijze kan tevens bij geen selectie een totaal ionenstroom-chromatogram (TIC) als input dienen. Eveneens kan bij geen selectie niet de intensiteitsom per tijdseenheid als chromatogram worden gebruikt, maar

5 een per tijdseenheid gesommeerde entropie waarde worden gebruikt resulterend in een totaal entropie-chromatogram (TEC). Daarenboven resulteert deze werkwijze bij entropie selectie in een gereconstrueerd entropie-chromatogram als input. De combinatie van evaluaties via multivariate analyse van zowel de m/z -dimensie als de tijdsdimensie in alle vormen, met en zonder entropie selectie, biedt een nieuwe wijze

10 van de karakterisering van complexe mengsels middels scheidingsmethoden gekoppeld aan spectrometrie.

Conclusies

1. Werkwijze voor het identificeren en kwantificeren van chemische componenten van een te onderzoeken mengsel van materialen, omvattende het
5 onderwerpen van het mengsel aan een scheidingsmethode (o.a. gas/vloeistof-
chromatografie, electroforese, capillaire electrochromatografie, iso-electric-focusing,
super kritische vloeistof chromatografie etc.) om de componenten van het mengsel te
scheiden in gescheiden materialen en het onderwerpen van de gescheiden materialen
aan spectrometrie om de componenten te detecteren en te identificeren, waarbij een
10 totale ionenstroomchromatogram of ionenelectropherogram en spectra worden
verkregen en waarbij uit de spectra massa's worden geselecteerd en voor elke massa
massachromatogrammen worden verkregen, **met het kenmerk**, dat de basislijn van de
massachromatogrammen wordt gecorrigeerd en dat de entropie van elk
massachromatogram wordt berekend en opgeslagen.
- 15 2. Werkwijze volgens conclusie 1, **met het kenmerk**, dat de eerste en tweede
afgeleiden van de massachromatogrammen worden bepaald en door de overgebleven
pieken een functie geplot met behulp van het Savitsky-Golay algoritme, waarbij deze
functie wordt gebruikt voor de basislijncorrectie.
3. Werkwijze volgens conclusie 1 of 2, waarbij de entropiewaarden worden
20 weergegeven.
4. Werkwijze volgens conclusie 1, 2 of 3, waarbij voorafgaand aan de
entropieberekening de massachromatogrammen worden gladgestreken (smoothing).
5. Werkwijze volgens conclusie 1, 2, 3 of 4, waarbij massachromatogrammen
worden geselecteerd, waarvan de berekende entropiewaarde hoger is dan een vooraf
25 gekozen entropiedrempelwaarde.
6. Werkwijze volgens conclusie 5, waarbij uit de geselecteerde
massachromatogrammen een gereconstrueerd totale ionenstroomchromatogram wordt
gevormd.
7. Werkwijze volgens conclusie 6, waarbij de massachromatogrammen naar
30 entropiewaarden worden geordend.
8. Werkwijze volgens conclusie 7, waarbij de massachromatogrammen geordend
naar entropiewaarden worden weergegeven.

9. Werkwijze volgens één van de voorafgaande conclusies, waarbij spectra voor bepaalde massa's worden geselecteerd en weergegeven.

10. Werkwijze volgens conclusie 8 en 9, waarbij wordt geschakeld tussen het weergeven van massachromatogrammen en het weergeven van massaspectra.

5 11. Werkwijze volgens één van de voorafgaande conclusies, waarbij een massa uit een lijst of een spectrum wordt geselecteerd, de correlatie tussen het bij de geselecteerde massa behorende massachromatogram en alle andere massachromatogrammen wordt berekend en alle andere massa's worden weergegeven volgens hun correlatiecoëfficiënten.

10 12. Werkwijze volgens conclusie 11, waarbij de massachromatogrammen worden bekeken en op basis van correlatie eventueel toegevoegd aan een groep.

13. Werkwijze volgens conclusie 12, waarbij een naam aan de groep wordt toegewezen.

15 14. Werkwijze volgens conclusie 12 of 13, waarbij een gereconstrueerd ionenstroomchromatogram wordt gevormd, waarbij een geselecteerde groep wordt uitgezonderd.

15. Werkwijze volgens conclusie, waarbij de stap van conclusie 13 wordt herhaald totdat er geen pieken in het gereconstrueerde totale chromatogram voorkomt.

20 16. Systeem voor het uitvoeren van de werkwijze volgens één van de voorafgaande conclusies, omvattende een chromatograaf waaraan een te onderzoeken mengsel kan worden toegevoerd en een daarop aangesloten spectrometer, waarbij een totale ionenstroomchromatogram en spectra worden verkregen en waarbij uit de spectra massa's worden geselecteerd en voor elke massa massachromatogrammen worden verkregen, **gekenmerkt** door een basislijn-correctie-inrichting waaraan de
25 massachromatogrammen kunnen worden toegevoerd, een entropie-rekeninrichting waaraan massachromatogrammen met gecorrigeerde basislijn kunnen worden toegevoerd en een opslaginrichting voor het opslaan van de berekende entropie-waarden.

30 17. Systeem volgens conclusie 16, waarbij een inrichting aanwezig is voor het bepalen van de eerste en tweede afgeleide van massachromatogrammen en een inrichting voor het bepalen van een functie door de overgebleven pieken met behulp van het Savitsky-Golay algoritme, waarbij deze functie wordt gebruikt voor de basislijncorrectie.

18. Systeem volgens conclusie 16 of 17, waarbij een weergeefinrichting aanwezig is voor het weergeven van entropiewaarden.

19. Systeem volgens conclusie 16, 17 of 18, waarbij een gladstrijkinrichting (smoothing) aanwezig is voor het gladstrijken van massachromatogrammen
5 voorafgaand aan de entropieberekening.

20. Systeem volgens conclusie 16, 17, 18 of 19, waarbij een selectie-inrichting aanwezig is voor het selecteren van massachromatogrammen waarvan de berekende entropiewaarde hoger is dan een aan de selectie-inrichting toegevoerde vooraf gekozen entropiedrempelwaarde.

10 21. Systeem volgens conclusie 20, waarbij een optelinrichting aanwezig is voor het optellen van de geselecteerde massachromatogrammen, waarbij op de uitgang van de optelinrichting een gereconstrueerd totaal ionenstroomchromatogram kan worden afgenomen.

22. Systeem volgens conclusie 21, **met het kenmerk**, dat een geheugeninrichting
15 aanwezig is voor het opslaan van de massachromatogrammen geordend naar entropiewaarden.

23. Systeem volgens conclusie 20, waarbij een weergeefinrichting aanwezig is die gekoppeld is met het geheugen om massachromatogrammen geordend naar entropiewaarden te kunnen weergeven.

20 24. Systeem volgens één van de conclusies 16-23, waarbij een selectie- en weergeefinrichting aanwezig is voor het selecteren en weergeven van spectra voor bepaalde massa's.

25 25. Systeem volgens conclusie 23 en 24, waarbij een schakelinrichting aanwezig is voor het schakelen tussen het weergeven van massachromatogrammen en het weergeven van massaspectra.

26. Systeem volgens één van de voorafgaande conclusies, waarbij een selectie-inrichting aanwezig is voor het selecteren van een massa uit een lijst of een spectrum, een correlator aanwezig is voor het berekenen van de correlatie tussen het bij de geselecteerde massa behorende massachromatogram en alle andere
30 massachromatogrammen, waarbij alle andere massa's worden weergegeven volgens hun correlatiecoëfficiënten.

27. Systeem volgens conclusie 26, waarbij een inrichting aanwezig is voor het toevoegen van één of meer massachromatogrammen aan een vooraf bepaalde groep op basis van de berekende correlatiecoëfficiënten.

28. Systeem volgens conclusie 27, waarbij een inrichting aanwezig is voor het
5 toewijzen van een naam aan een bepaalde groep.

29. Een systeem volgens conclusie 27 of 28, waarbij een optelinrichting aanwezig is voor het telkens vormen van een gereconstrueerd ionenstroomchromatogram, waarbij telkens een geselecteerde groep wordt uitgezonderd.

30. Een systeem waarbij een entropie-gewogen centraal massaspectrum wordt
10 berekend en weergegeven.

31. Werkwijze volgens één van de conclusies 1-15, waarbij een vingerafdruk van een te onderzoeken mengsel wordt gegenereerd, doordat het spectrum, bevattende de entropiewaarden als functie van de m/z waarde aan een multivariate analyse wordt onderworpen.

32. Werkwijze volgens één van de conclusies 1-15, waarbij een vingerafdruk van
15 een te onderzoeken mengsel wordt gegenereerd, doordat een gereconstrueerd totaal ionenstroomchromatogram aan een multivariate analyse wordt onderworpen.

33. Werkwijze volgens één van de conclusies 1-15, waarbij een vingerafdruk van een te onderzoeken mengsel wordt gegenereerd, doordat een totaal entropie-
20 chromatogram aan een multivariate analyse wordt onderworpen.

34. Systeem volgens één van de conclusies 16-30, waarbij is voorzien in een multivariate analysator, waaraan het spectrum, bevattende de entropiewaarden als functie van de m/z waarde van een te onderzoeken mengsel wordt toegevoerd en aan de uitgang waarvan de vingerafdruk van het mengsel kan worden afgenomen.

35. Systeem volgens één van de conclusies 16-30, waarbij is voorzien in een multivariate analysator, waaraan een gereconstrueerd totaal ionenstroomchromatogram van een te onderzoeken mengsel wordt toegevoerd en aan de uitgang waarvan de vingerafdruk van het mengsel kan worden afgenomen.

36. Systeem volgens één van de conclusies 16-30, waarbij is voorzien in een
30 multivariate analysator, waaraan een totaal entropie-chromatogram wordt toegevoerd en aan de uitgang waarvan de vingerafdruk van het mengsel kan worden afgenomen.

10 III A

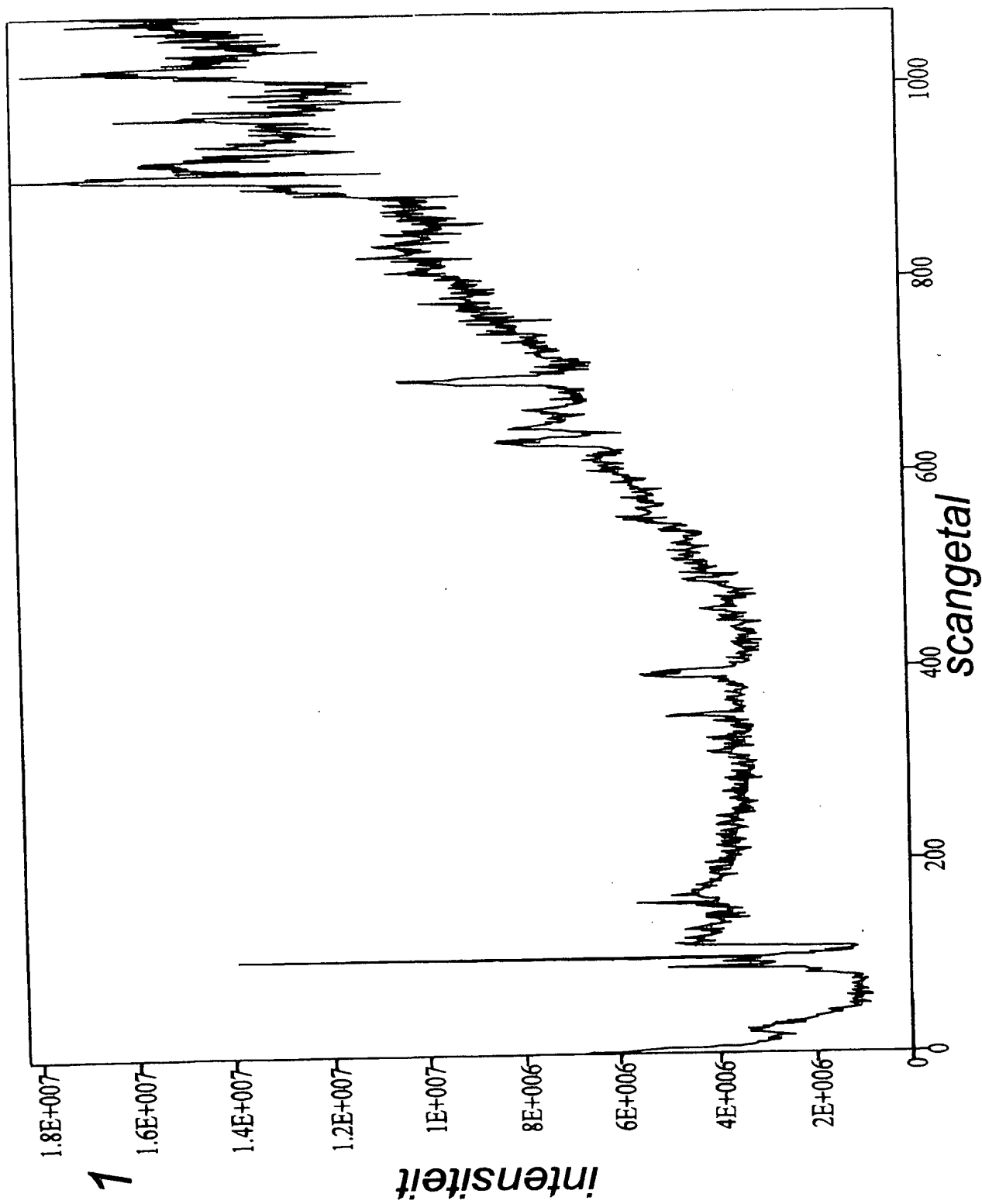
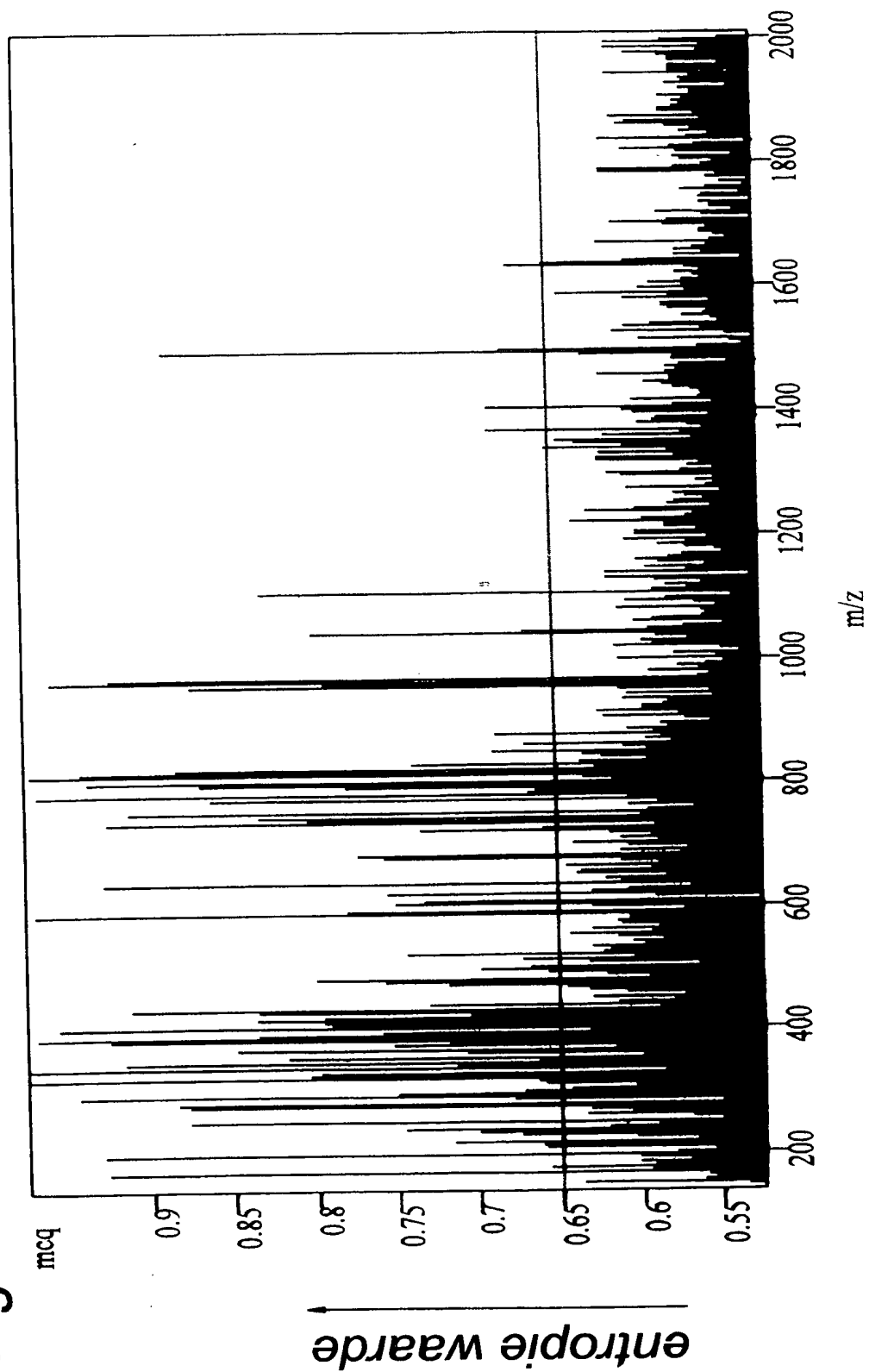


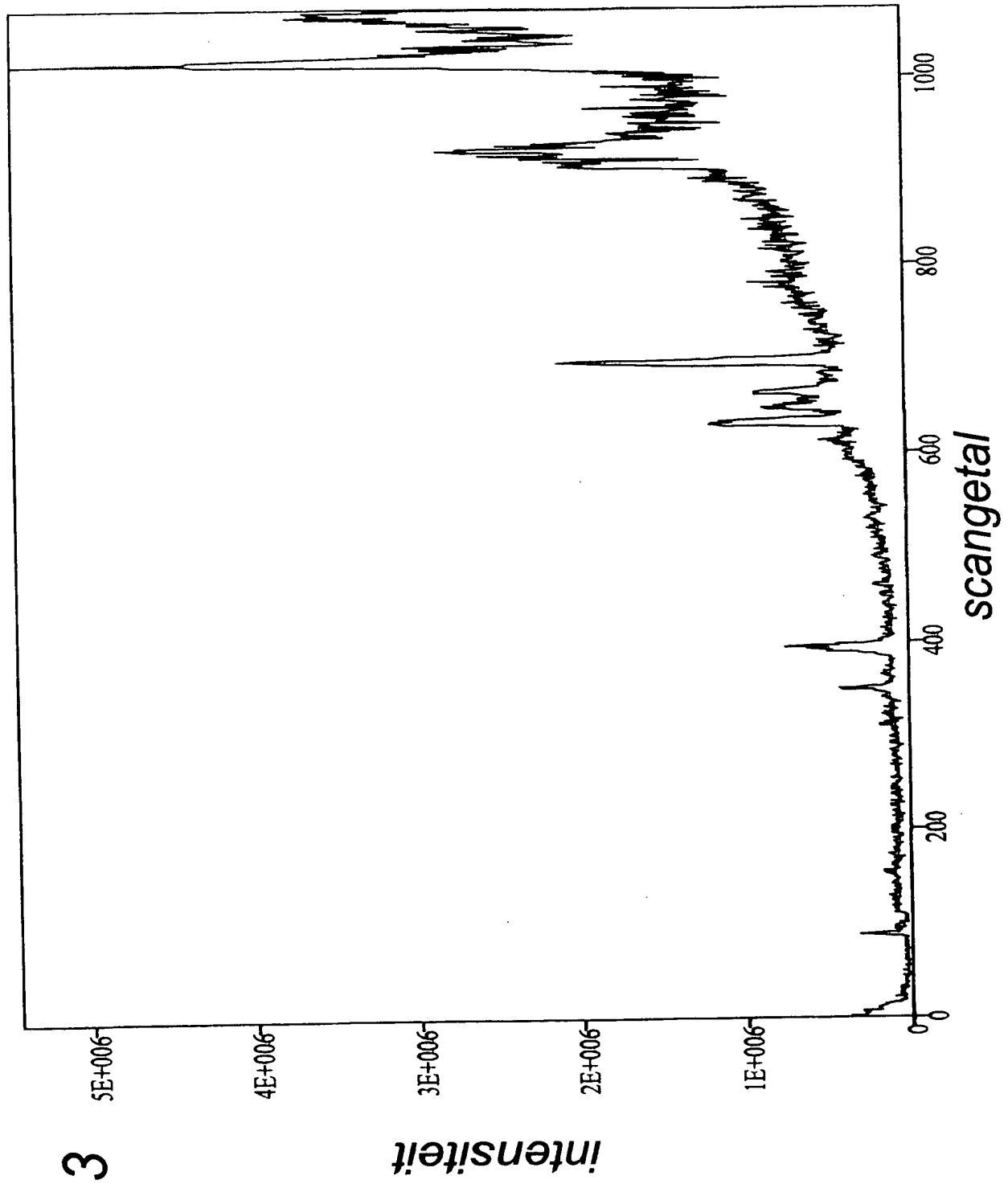
Fig 1

Fig 2



10/11/20

Fig 3



10/11/01

Fig 4a

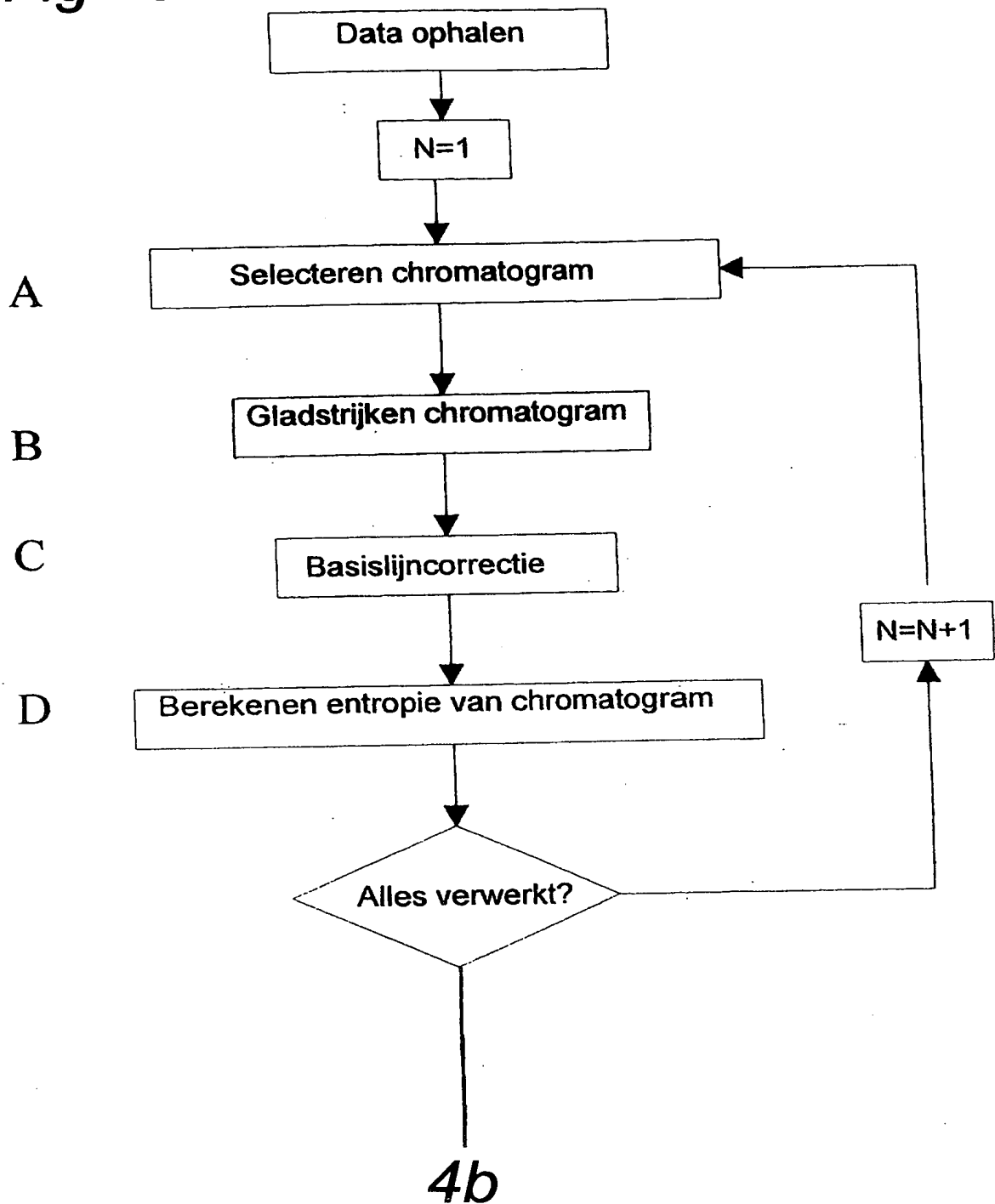


Fig 4b

4a

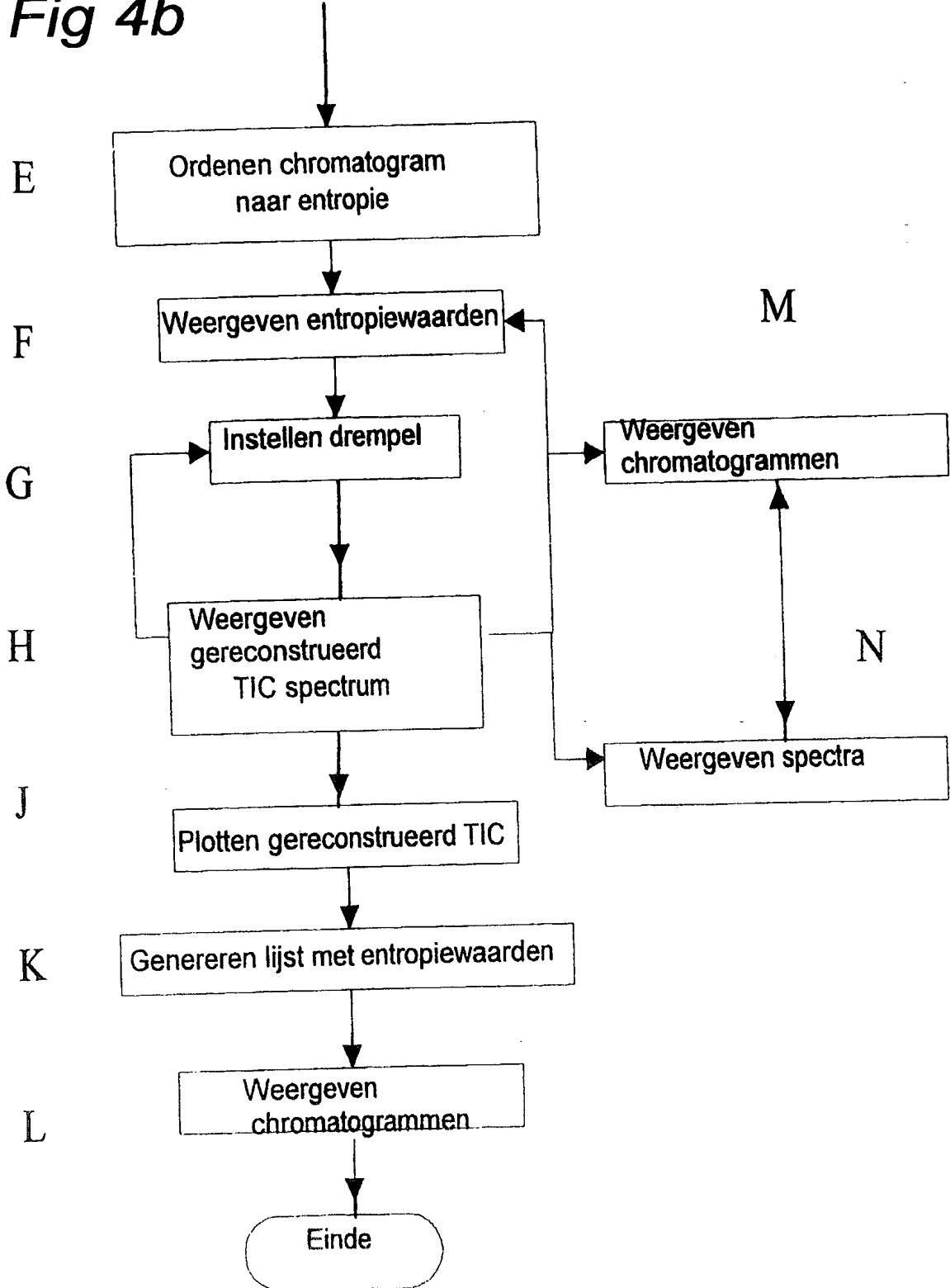


Fig 5

